

University of Groningen

HMF oxidase

Dijkman, Willem Pieter

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2015

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Dijkman, W. P. (2015). *HMF oxidase: Characterization, application and engineering of 5-(hydroxymethyl)furfural oxidase*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

8

Fryske gearfetting

Willem P. Dijkman

*This chapter is translated by:
Aukje Dijkman-Kamminga and Lieukje Leistra-Reidsma*



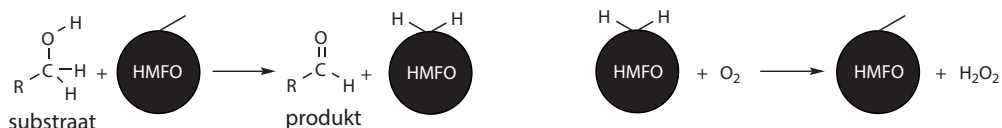
Fryske gearfetting

Dit proefskrift draait om HMFO, in ôfkoarting dy't mar by inkelen in assosjaasje oproppe sil. Dat bewiist mar hoe iensum in promoasje-ûndersyk wêze kin! Dizze gearfetting wol it foar jo lizzende boekje tagonklik meitsje.

HMFO is de ôfkoarting fan '5-(hydroxymethyl)furfural oxidase'. It efterheaksel 'ase' jout oan dat it hjir om in ensym giet, in aaiwynt dat de iene stof omset yn de oare. Yn it proses wurde elektronen út de begjinstof helle en úteinlik oan soerstof ôfjûn. It is in oksydaasjereaksje. In ensym dat sa'n reaksje útfiert, hjit dan in oksydaze. No docht de fraach him foar: hokker stof wurdt troch dit oksydaze omset? "5-(Hydroxymethyl)furfural", leit as antwurd foar de hân, mar dit blykt mar in part fan it antwurd te wêzen.

Foar wa't it spoar no al bjuster is, komt hjir earst in koarte útlis oer wat in aaiwynt en wat in oksydaasjereaksje is. Aaiwiten binne lange keatlingen fan koarte skeakels, de aminosjoeren. Der binne 20 farianten aminosjoeren, elk hat syn eigen eigenskippen en de folchoarder fan de aminosjoeren yn it keatling stelt úteinlik de wurking fan it aaiwynt fêst. It keatling teart himsels op yn in unike foarm; foar HMFO is dat rûchwei in bol. De funksjes fan aaiwiten kinne nochal wat útinoar rinne: guon soargje bygelyks foar struktuer, oare foar transport, foar regulaasje fan ferskate prosessen of sy binne katalysatoaren. HMFO heart by dy lêste groep, want HMFO katalysearret in reaksje: it set de iene stof om yn de oare. De stoffen dy't omset wurde, binne de substraten en de stoffen dy't makke wurde, binne de produkten. In substraat kin op ferskate manieren omset wurde. By HMFO is it sa dat it substraat elektronen kwytrekket. Dat neame we: it substraat oksydearret. HMFO nimt dy elektronen op. We neame dat: HMFO redusearret. Oksydearre en redusearre binne dus tsjinoerstelde fan elkoar. HMFO soe in aaiwynt fan neat wêze as it dy reaksje mar ien kear dwaan kinne soe. Om de reaksje op 'e nij ta stân te bringen, moat HMFO earst de elektronen kwynt, dy't it by de earste reaksje krigen hat. Dat docht HMFO troch de elektronen ôf te jaan oan soerstof. Dizze hiele reaksje is te sjen yn Figuer 1. Neist HMFO binne der noch in soad oare oksydazen. Watfoar oksydazen dat binne en hoe't se har wurk dogge, is beskreaun yn haadstik 1.

Wêrom draait dit proefskrift om it aaiwynt HMFO? Dat hat te krijen mei it sykjen fan alternativen foar ierdoalje as grûnstof fan produkten, bygelyks plastics. Om't de foarrie ierdoalje beheind is, moatte we op 'e siik nei oare grûnstoffen. De natuer jout ús withoe folle mooglikheden. Der is bygelyks in mannichte oan sûkers en in protte dêrfan kinne omset wurde yn plastic. Figuer 2 lit sjen watfoar ûnderskate stappen yn sa'n proses nedich binne. Yn de



Figuer 1. De oksydaasjereaksje fan HMFO. Yn de earste reaksje (lofts) nimt HMFO in proton (H) en in hydride (H mei in streekje) oer fan it substraat. Dit hat in oksydearre produkt en in redusearre HMFO fan folgen. De streekjes yn de figuer (biningen) binne elektronenpearen. Wa't de binningen fan it substraat telt en fergeliket mei dy fan it produkt, sjocht dat der in elektronenpear ferdwûn is: in oksydaasjereaksje. De 'R' yn it substraat en yn it produkt jout oan dat op dit plak ferskate groepen sitte kinne; sjoch bygelyks Tabel 1 yn haadstik 2. Yn de twadde reaksje (rjochts) jout HMFO de beide H's en in streekje ôf oan soerstof. HMFO is dan wer klear om in nij substraat om te setten.



Figuer 2. It meitsjen fan PEF-plastic út sûkers. Stap 1: Sûkers as glukoaze en fruktoaze kinne omset wurden yn 5-(hydroxymethyl)furfural (HMF). Stap 2: HMF wurdt yn 3 reaksjes oksydearre ta FDCA. Stap 3: FDCA kin dêrnei oan elkoar keppele wurde ta it plastic PEF.

earste stap wurde sûkers omset yn 5-(hydroxymethyl)furfural, ôfkoarte as HMF. De oksidaasje fan HMF jout 2,5-furaandicarbonzuur (FDCA). En FDCA kin dan brûkt wurde om plastics fan te meitsjen. Dat plastic hjit polyethyleen furanoaat, ôfkoarte as PEF en is te fergelykjen mei polyethyleentereftalaat (PET), wêr't oant no ta flessen foar frisdrinken fan makke wurde. Figuer 2 lit sjen dat de oksidaasje fan HMF yn de omsetting fan sûker nei FDCA in beskiedende stap is, dy't útfierd wurdt troch HMFO. Foar de produksje fan plastics út in plantaardige grûnstof dy't hieltyd wer brûkt wurde kin, is it dus saak dat we dit aaiwynt goed trochsjoegje.

Yn haadstik 2 wurdt it sykjen nei in aaiwynt dat HMF oksydearre kin út de doeken dien. By it begjin fan myn promoasje-ûndersyk wie HMFO der nammentlik noch net, hoewol't der al wol in aaiwynt wie dat mooglik deselde rol spylje koe. Oan de hân fan dat aaiwynt is HMFO fûn. De lab-baktearre *Escherichia coli* waard brûkt om it aaiwynt HMFO te meitsjen. Troch de *Escherichia coli* sellen dêrnei iepen te brekken en it aaiwynt te suverjen, koenen we HMFO bestudearre sûnder benaud te wêzen foar ynfloed fan de baktearjesellen op de eksperiminten. Sa fûnen we dat it aaiwynt HMFO yndie HMF oksydearre.

De wurksumens fan HMFO beheint him lykwols net ta de oksidaasje fan (de alkoholgroep fan) HMF. Al gau waard dúdlik dat HMFO ek ferskate oare alkoholen oksydearre kin. En dat is fan wêzentlike betsjutting foar it meitsjen fan FDCA. De oksydaasje fan HMF liedt nammentlik net streekryocht nei FDCA, mar nei in yntermediêr. HMFO moat dat yntermediêr noch in kear oksydearre en ek dy stap rint allinne mar út op in tuskenprodukt. Der is noch in tredde reaksje nedich om FDCA te krijen. Utgeande fan HMF moat HMFO dus trije oksydaasjereaksjes dwaan om FDCA te meitsjen. De unike eigenskip fan HMFO om alle trije stappen útfiere te kinnen, is beskreaun yn haadstik 3. Skema 1 yn dat haadstik lit oant yn detail sjen watfoar stappen HMFO makket en hoe't de twa yntermediêren der út sjogge.

Om mear ynsjoch yn it aaiwynt te krijen, is de trijediminsjonale struktuer fan HMFO opheldere (haadstik 4). Sa as earder neamd: HMFO is rûchwei in bol, foarme troch in oprôle keatling fan aminosuoren. Om te begripen hoe't it aaiwynt syn wurk docht, is it wichtich te witten watfoar aminosuor wêr sit. De oksydaasjereaksje krijt yn 'e midden fan it aaiwynt syn beslach, dêr wêr't de ferskate aminosuoren in gaadlik plak foarmje om it substraat te binen en te oksydearre. Aminosuoren binne lykwols sels net goed by steat om in oksydaasjereaksje mooglik te meitsjen. Dêrom hat it aaiwynt ek in oare molekulê yn him, FAD, dat komt fan fitamine B2. Oan de opbou fan HMFO is goed te sjen hoe't FAD en in oantal aminosuoren gearwurkje om in oksydaasjereaksje ta stân te bringen. Omdat we no it plak fan elk atoom yn it aaiwynt witte, is it sels mooglik in stikmannich aminosuoren te ferruiljen foar oare en sa de reaktiviteit te feroarjen. It sa oanpaste HMFO-aaiwynt kin reaksjes ta stân bringe dy't it natuerlike aaiwynt net útfiere kin. Boppedat kin de oanpaste ferzje in oare reaksje hurder útfiere as it oarspronklike aaiwynt.

Al earder is neamd dat HMFO ferskate alkohoalen oksydearje kin. Mar we wisten noch net dat it ek thioalen omsette kin. In alkoholgroep, yn Figuer 1 oantsjitten mei -OH, liket bot op in thiolgroep. Yn thioalen, -SH, sit swevel yn stee fan soerstof en se rûke gauris sterk. De lucht fan stjonkbisten, knyflok, mar ek fan kofje komt foar in grut part fan thioalen. Hoewol't thioalen gemysk ticht by alkohoalen lizze, wie noch nea bewiisd dat oksydazen thiolgroepen omsette kinne. Mar, in protte oksydazen wêr 't fan tocht waard dat se allinne alkohoalen omsette kinne, blike dus ek thioalen oksydearje te kinnen en HMFO is ien fan dy oksydazen. Dy fynst iepenet de wei nei nije produkten, dy't brûkt wurde kinne foar fierdere gemyske stappen.

By it begjin fan myn promoasje-ûndersyk wie HMFO allinne noch mar in konsept. We sochten nei in aaiwynt dat stap 2 fan Figuer 2 dwaan koe, mar watfoar aaiwynt dat wêze soe, wie noch ûnbekend. Stadichoan is HMFO feroare fan in rychje letters yn in database fan genen yn in ensym. It is no in aaiwynt dêr't we krekt fan witte hoe't it der út sjocht én dêr't it ús no ek foar in grut part fan dúdlik is hoe't it wurket. Lykwols, der stean yn de winkels noch gjin flessen, dy't makke binne fan biologysk plastic, want der moat noch mear dien wurde foardat HMFO yndustrieel tapast wurde kin.

De moaie ûndersyksresultaten en nije útkomsten dy't yn dit proefskrift beskreaun wurde, foarmje dêrfoar in goede basis.

